

不同红掌品种愈伤组织诱导及高效再生体系的建立

薛其勤, 李美芹, 裴华丽, 乔 宁, 刘永光, 杨天慧

(潍坊科技学院, 山东 寿光 262700)

摘 要:以“火焰”、“阿拉巴马”和“粉冠军”3个红掌盆花品种的叶柄、叶片为外植体,对红掌愈伤组织诱导及植株再生进行了研究,建立了红掌的高效再生体系。结果表明:红掌的叶柄较叶片更适宜愈伤组织的诱导,叶柄为外植体诱导愈伤组织的最适培养基:1/2MS+1.5 mg/mL 6-BA+0.6 mg/mL 2,4-D,诱导率为81.7%;以叶片为外植体诱导愈伤组织的最适培养基为:1/2MS+1.0 mg/mL 6-BA+0.8 mg/mL 2,4-D,诱导率为65.0%;“火焰”的愈伤组织诱导率最高,其次为“阿拉巴马”,“粉冠军”的愈伤组织诱导率最低。以叶柄和叶片作为外植体诱导产生的愈伤组织最适宜分化培养基为:1/2MS+1.0 mg/mL 6-BA+0.2 mg/mL NAA,分化率分别达到88.3%和73.3%;“火焰”的芽分化率仍最高,“阿拉巴马”次之,“粉冠军”的芽分化率最低。幼苗生根的最适宜培养基为:1/2MS+0.5 mg/mL NAA。草炭土+珍珠岩(1:1)混合基质是理想的移栽基质,移栽成活率为95%。

关键词:红掌;愈伤组织;诱导;植株再生;选择

中图分类号:S 682.1⁺4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)10-0130-03

红掌(*Anthurium andraeanum*)为天南星科花烛属植物,又名安祖花、花烛,因其花型独特、姿态优美、色彩绚丽,叶片有天鹅绒的金属光泽,花期长,成为深受市场喜爱的高档切花品种^[1]。离体培养是目前红掌种苗工厂化生产的主要途径,自Pierik R L M等^[2]对红掌进行组织培养成功以来,国内外许多学者对红掌的组织培养快繁体系进行了大量研究^[3-4],但红掌组织培养过程中外植体诱导愈伤组织周期较长,获得无菌苗速度较慢,同时,不同红掌品种和器官的脱分化能力有差异^[5-6]。该研究在前人报道的基础上,进行了不同红掌品种和不同外植体的愈伤组织诱导和植株再生能力的研究,以期建立红掌高效再生体系,为红掌的种苗工厂化生产及体细胞杂交提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试品种为“火焰”(‘Fire’)、“阿拉巴马”(‘Alabama’)

第一作者简介:薛其勤(1981-),男,山东莱芜人,硕士,讲师,现主要从事植物生物技术和宏观农业等研究工作。E-mail: xueqiqin@163.com。

责任作者:李美芹(1968-),女,博士,副教授,现主要从事生物学研究工作。E-mail: mqli901@126.com。

基金项目:山东省高等学校科技计划资助项目(J10LC78);山东省优秀中青年科学家科研奖励基金资助项目(2009BSA07005)。

收稿日期:2012-02-27

和“粉冠军”(‘Pink champion’),由潍坊科技学院实验基地(青州市绿圣兰业花卉有限公司)提供。基本培养基:1/2MS培养基。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒 选取刚展开的红掌幼叶(带叶柄),先用自来水冲洗数次,再用70%酒精消毒15 s,接着用0.1%的升汞浸泡8~10 min,最后无菌水冲洗5~6次,无菌滤纸吸干置培养皿内备用。

1.2.2 愈伤组织诱导 将消毒后的“火焰”叶片切成1 cm×1 cm的小块,将叶柄切成1.5 cm的小段,用镊子将不同外植体分别接种到添加不同浓度的6-BA和2,4-D的培养基上进行诱导培养。

1.2.3 愈伤组织的分化 将诱导出的愈伤组织在最适培养基上继代培养1次后,接种到添加不同浓度的6-BA和NAA的分化培养基上诱导芽的产生。

1.2.4 不同红掌品种对愈伤组织诱导和芽分化率的影响 将3个红掌品种的叶柄和叶片分别接种到1/2MS+1.5 mg/mL 6-BA+0.6 mg/mL 2,4-D和1/2MS+1.0 mg/mL 6-BA+0.8 mg/mL 2,4-D的愈伤诱导培养基;将叶柄和叶片产生愈伤的组织接种到1/2MS+1.0 mg/mL 6-BA+0.2 mg/mL NAA培养基上诱导芽分化。

1.2.5 生根壮苗培养 将高2 cm的不定芽分切下来,然后转入1/2MS、1/2MS+0.5 mg/mL NAA和1/2MS+1.0 mg/mL NAA 3种生根壮苗培养基,30 d继代1次,

60 d 后统计结果。

1.2.6 幼苗移栽 将高 4 cm 以上、根系发达、长出 3~5 片叶的健壮幼苗练苗移栽,开始时每天打开瓶盖 2 次,持续 1 周后,完全打开瓶盖,置于通风明亮的常温房间里,每天早、中、晚各喷水 1 次,经过 2~3 d 后,将根系附着的培养基洗净,移植在栽培基质上,淋水、罩上透明塑料薄膜保持湿度,10 d 后打开保湿罩,30 d 后统计成活率。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导

将消毒后的“火焰”外植体接种在表 1 中所列培养基中培养,30 d 后开始形成黄绿色的愈伤组织(图 1A)。由表 1 可知,以叶柄作为外植体,诱导愈伤组织的最佳培养基为:1/2MS+1.5 mg/mL 6-BA+0.6 mg/mL 2,4-D,诱导率为 81.7%;以叶片为外植体,诱导愈伤组织的最佳培养基为:1/2MS+1.0 mg/mL 6-BA +0.8 mg/mL 2,4-D,诱导率为 65.0%;叶柄作为外植体的平均诱导率为 50.4%,高于叶片作为外植体的诱导率 41.2%,叶柄作为外植体更易产生愈伤组织。不同红掌品种在相同培养基上的愈伤组织诱导率也存在较大差异(表 3),“火焰”的愈伤组织诱导率最高,其次为“阿拉巴马”,“粉冠军”的愈伤组织诱导率最低;3 个品种的叶柄愈伤组织诱导率都高于叶片愈伤组织诱导率。

表 1 不同激素对比对红掌愈伤组织诱导的影响

Table 1 Effect of different hormone combination on callus induction of *Anthurium andraeanum*

培养基 Medium	激素浓度 Hormone concentration /mg · mL ⁻¹		愈伤组织诱导率 Callus induction rate/%		平均愈伤组织诱导率 Average callus induction rate/%	
	6-BA	2,4-D	叶柄作为 外植体		叶片作为 外植体	
			Petioles used as explants	Blade used as explants	Petioles used as explants	Blade used as explants
P ₁	0.5	0.4	25.0	21.7		
P ₂	0.5	0.6	33.3	28.3		
P ₃	0.5	0.8	61.7	56.7		
P ₄	0.5	1.0	58.3	45.0		
P ₅	1.0	0.4	28.3	31.7		
P ₆	1.0	0.6	58.3	53.3		
P ₇	1.0	0.8	70.0	65.0	50.4	41.2
P ₈	1.0	1.0	55.0	50.0		
P ₉	1.5	0.4	56.7	28.3		
P ₁₀	1.5	0.6	81.7	35.0		
P ₁₁	1.5	0.8	63.3	56.7		
P ₁₂	1.5	1.0	53.3	46.7		
P ₁₃	2.0	0.4	31.7	20.0		
P ₁₄	2.0	0.6	35.0	28.3		
P ₁₅	2.0	0.8	45.0	50.0		
P ₁₆	2.0	1.0	50.0	41.7		

2.2 不定芽的形成

将叶柄和叶片产生的愈伤组织分别接种到表 2 所示的培养基上诱导芽分化,结果表明,以叶柄和叶片作为外植体诱导产生的愈伤组织在 1/2MS+1.0 mg/mL

6-BA+0.2 mg/mL NAA 的分化培养基上的分化率最高,分别达到 88.3%和 73.3%,平均每块愈伤组织分化不定芽数分别为 15.4 个和 10.3 个(表 2,图 1B)。“火焰”的芽分化率仍最高,“阿拉巴马”次之,“粉冠军”的芽分化率最低(表 3)。

表 2 不同激素对比对红掌愈伤组织诱导芽分化的影响

Table 2 Effect of different hormone combination on bud differentiation of *Anthurium andraeanum*

培养基 Medium	激素浓度 Hormone concentration /mg · mL ⁻¹		芽分化率 Bud differentiation rate/%		平均分化芽数 Number of bud differentiation	
	6-BA	NAA	叶柄作为 外植体		叶片作为 外植体	
			Petioles used as explants	Blade used as explants	Petioles used as explants	Blade used as explants
N1	0.5	0.1	26.7	25.0	3.1	2.9
N2	0.5	0.2	53.3	48.3	6.8	5.1
N3	0.5	0.3	41.7	45.0	5.6	5.4
N4	1.0	0.1	75.0	65.0	9.6	7.8
N5	1.0	0.2	88.3	73.3	15.4	10.3
N6	1.0	0.3	81.7	58.3	12.7	8.5
N7	1.5	0.1	33.3	38.3	3.7	3.5
N8	1.5	0.2	46.7	45.0	4.5	4.3
N9	1.5	0.3	35.0	36.7	4.0	4.1

表 3 不同品种对红掌愈伤组织诱导及芽分化的影响

Table 3 Effect of different varieties on callus induction and bud differentiation of *Anthurium andraeanum*

品种 Varieties	愈伤组织诱导率 Callus induction rate/%		芽分化率 Bud differentiation rate/%	
	叶柄作为 外植体		叶片作为 外植体	
	Petioles used as explants	Blade used as explants	Petioles used as explants	Blade used as explants
“火焰” ‘Fire’	81.7	65.0	88.3	73.3
“阿拉巴马” ‘Alabama’	73.3	61.7	86.7	66.7
“粉冠军” ‘Pink champion’	63.3	56.7	78.3	61.7

2.3 根的诱导

由表 4 和图 1 C 可看出,红掌生根较容易,不定芽在生根培养基上培养 15 d 左右开始生根,30 d 可形成完整根系,在 1/2MS 培养基上生根率可达到 91.7%,添加 0.5 mg/mL 和 1.0 mg/mL 的 NAA,生根率即达到 100%,平均每株分别产生 5.8 和 6.2 条不定根。添加 0.5 mg/mL 的 NAA,根系粗壮,且不易产生畸形苗,是最佳的生根培养基。

表 4 不同培养基对红掌幼苗生根的影响

Table 4 Effect of different media on rooting of *Anthurium andraeanum*

培养基 Medium	生根率 Rooting rate/%	平均根数 Number of roots
1/2MS	91.7	3.7
1/2MS+NAA 0.5 mg/mL	100	5.8
1/2MS+NAA 1.0 mg/mL	100	6.2

2.4 试管苗的移栽

幼苗长至 4 cm 以上后移栽至草炭土:珍珠岩(1:1)混合基质中,成活率可达 95%(图 1D)。

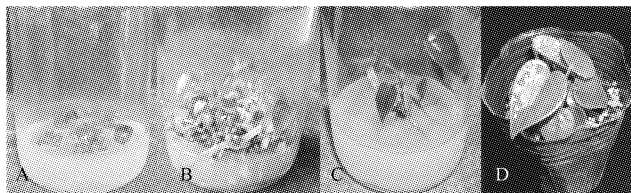


图 1 红掌愈伤组织诱导与植株再生

注:A. 愈伤组织诱导;B. 芽的分化和生长;C. 根的诱导;D. 移栽。

Fig. 1 Callus Induction and Plant Regeneration in

Anthurium andraeanum

Note: A. Callus induction; B. Differentiation and growth of shoot;

C. Root induction; D. Transplantation.

3 结论

红掌组织培养主要以叶片、叶柄和茎段作为外植体^[5-7],其中叶片和叶柄由于取材方便,消毒容易,愈伤组织诱导率较高,普遍采用二者作为外植体。该研究分别以红掌叶片和叶柄为外植体进行愈伤组织诱导和植株再生,研究表明,在不同激素和浓度配比下,以 1/2MS+1.5 mg/mL 6-BA+0.6 mg/mL 2,4-D 的培养基对叶柄愈伤组织诱导率最高,诱导率为 81.7%;以 1/2MS+1.0 mg/mL 6-BA+0.8 mg/mL 2,4-D 的培养基对叶片愈伤组织诱导率最高,诱导率为 65.0%;愈伤组织最适宜分化培养基为: 1/2MS+1.0 mg/mL

6-BA+0.2 mg/mL NAA。以叶柄作为外植体比叶片作为外植体具有更高的愈伤组织诱导率和芽分化率,这与兰芹英^[6-7]的研究结果一致。

该研究发现,红掌生根较容易,在诱导芽分化时即可产生不定根(图 1B),采用 1/2MS+0.5 mg/mL NAA 生根培养基,根系更粗壮,植株健壮,移栽成活率高。该研究采用了 3 个主要的红掌盆花品种,发现其再生能力有较大差异,“火焰”的愈伤组织诱导率和分化率最高,其次为“阿拉巴马”,“粉冠军”的愈伤组织诱导率和分化率最低。

参考文献

- [1] 夏春华. 世界红掌切花业概况和发展海南红掌切花产业的思路[J]. 热带农业科学, 2001(1): 7-9.
- [2] Pierik R L M, Steegmans H H M, Van Der Meys J A J. Plantlet formation in callus tissues *Anthurium andraeanum* Lind. [J]. Scientia Horticulturae, 1974(2): 193-198.
- [3] Pierik R L M. *Anthurium andraeanum* plantlets produced from cultivated *in vitro* [J]. Physiol. Plant, 1976, 37: 80-82.
- [4] Pierik R L M, Van Leeuwen P, Pigter G C C M. Regeneration of leaf explants of *Anthurium andraeanum* Lind. *in vitro* [J]. Neth. J. Agric. Sci., 1979, 29: 221-226.
- [5] 肖三元, 梁国平, 杨焱, 等. 红掌不同品种产生愈伤组织的差异[J]. 热带农业科学, 2005, 28(2): 7-9.
- [6] 兰芹英, 仇玉萍, 张远辉, 等. 不同红掌品种的叶片叶柄和茎段愈伤组织的诱导及植株再生[J]. 西北植物学报, 2003, 23(6): 1006-1009.
- [7] 兰芹英, 李启任, 何惠英, 等. 红掌愈伤组织诱导和芽的分化[J]. 园艺学报, 2003, 30(1): 107-109.

Study on Callus Induction and Efficient Regeneration System in Different Varieties of *Anthurium andraeanum*

XUE Qi-qin, LI Mei-qin, PEI Hua-li, QIAO Ning, LIU Yong-guang, YANG Tian-hui
(Weifang University of Science and Technology, Shouguang, Shandong 262700)

Abstract: The petioles and blade of three *Anthurium andraeanum* varieties of ‘Fire’, ‘Alabama’, ‘Pink Champion’ were used as explants, the callus induction and plantlet regeneration of *Anthurium andraeanum* were studied, and its highly efficient regeneration system were established. The results showed that petioles were suitable explants in callus induction. The optimum medium for callus induction used petioles as explants was 1/2MS medium supplemented with 1.5 mg/mL 6-BA and 0.6 mg/mL 2,4-D, induction rate was 81.7%; The optimum medium for callus induction used blade as explants was 1/2MS medium supplemented with 1.0 mg/mL 6-BA and 0.8 mg/mL 2,4-D, induction rate was 65.0%; The rates of callus induction and bud differentiation of *Anthurium andraeanum* ‘Fire’ were highest. And the rates of callus induction and bud differentiation of *A. andraeanum* ‘Alabama’ were higher than those of *A. andraeanum* ‘Pink champion’. The optimum medium for bud differentiation used petioles and blade as explants were 1/2MS medium supplemented with 1.5 mg/mL 6-BA and 0.6 mg/mL 2,4-D, induction rate were 88.3% and 73.3% respectively; The most suitable rooting medium was 1/2MS medium supplemented with 0.5 mg/mL NAA. Turfy soil and perlite(1:1) was useful for transplantation, and the survival rate was 95%.

Key words: *Anthurium andraeanum*; callus; induction; plant regeneration